

Aus dem Radiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Direktor: Professor Dr. H. Langendorff

Untersuchungen über einen biologischen
Strahlenschutz

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

H o h e n M e d i z i n i s c h e n F a k u l t ä t

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau



vorgelegt von

Fritz Stähler

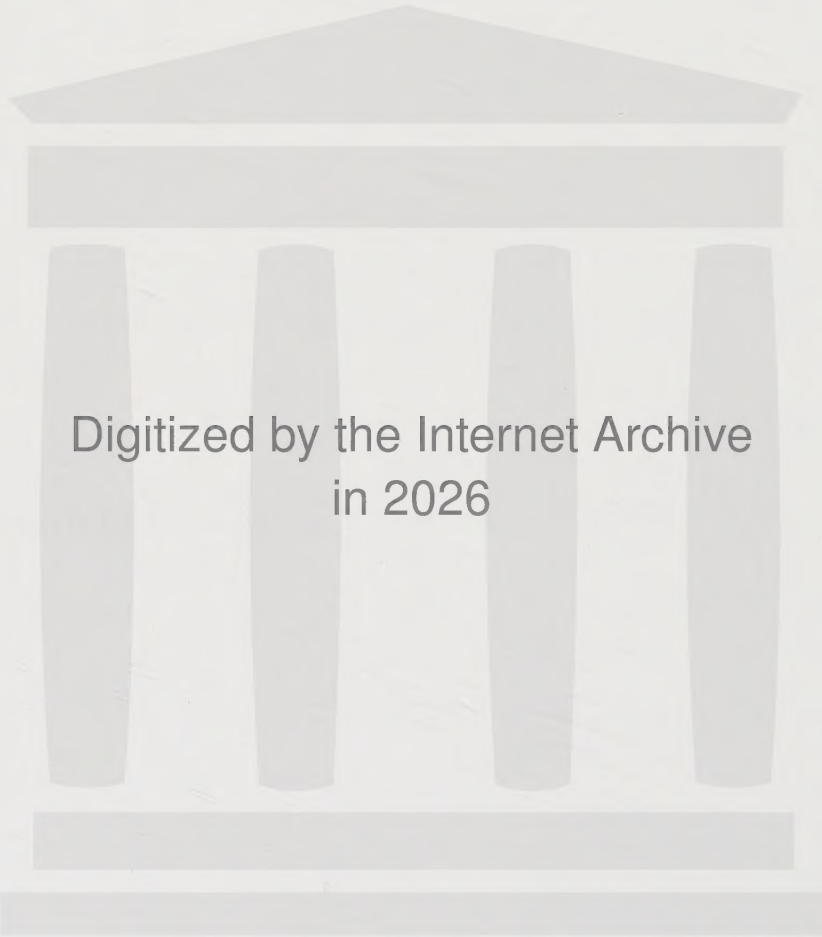
aus

Siegen/Westfalen

1963

Dekan: Prof. Dr. Albrecht Fleckenstein

Referent: Prof. Dr. Ruprecht Koch



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Radiologischen Institut der Universität Freiburg/Brsg.
(Direktor: Prof. Dr. H. Langendorff)

Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz

II. Mitteilung: Die Wirkung chemischer Strahlenschutzstoffe bei in-vitro-Bestrahlung von Rinderserumalbuminlösungen*

Von

Ruprecht Koch und Fritz Stähler**

Mit 10 Abbildungen

In einer vorausgehenden Arbeit [17] haben wir uns mit Veränderungen beschäftigt, die man bei der Ultrazentrifugation röntgenbestrahlter Rinderserumalbuminlösungen beobachtet. Wir haben dabei auch beschrieben, daß ein Zusatz von 0,25% Cystein zu einer 1%igen Albuminlösung jegliche Veränderung bis zu einer Dosis von 6×10^6 R verhindert. 6×10^6 R sind in unseren Versuchen jene Dosis, nach der sich kein normales Rinderserumalbumin mehr in der Lösung findet. Die folgenden Untersuchungen sollen andere Schutzstoffe überprüfen.

Wir wissen aus zahlreichen Beobachtungen am lebenden Objekt, daß z. B. nicht jede Sulfhydrylsubstanz in der Lage ist, einen Strahlenschutz zu gewähren. Von *Alexander* [5] wird angenommen, daß bei Bestrahlung von Makromolekülen in vitro alle Stoffe einen Strahlenschutzeffekt aufweisen, die als Wasserstoffdonatoren auftreten können. Dabei wird die an einem Makromolekül unter der Bestrahlung gebildete Radikalstelle durch Aufnahme eines Wasserstoffatoms gelöscht, und auf diese Weise werden weitere chemische Veränderungen am Makromolekül verhindert. In einer Reihe von Mitteilungen haben *Alexander*, *Bacq* und Mitarb. [2, 1, 3] zahlreiche Substanzen auf ihre Schutzwirkung an Kunststoffen untersucht. In vielen Fällen war die Fähigkeit, als Wasserstoffdonator wirksam zu werden, für den Schutzeffekt einer Substanz von großer Bedeutung. Es soll nicht übersehen werden, daß auch andere Beobachtungen vorliegen, in denen zweifellos kein einfacher Wasserstofftransfer als Schutzmechanismus anzunehmen ist.

* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Dr. h. c. *Hans Meyer* in tiefer Verehrung und Dankbarkeit zum 85. Geburtstag gewidmet.

** Erschienen in extenso mit gleichem Titel als Doktorarbeit: *F. Stähler*, Inaugural-Dissertation an der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg/Brsg. 1962.

Die vorliegenden Untersuchungen setzen sich zur Aufgabe festzustellen, ob auch bei Bestrahlung eines biologischen Makromoleküls gleiche oder ähnliche Verhältnisse vorliegen; vor allem aber, ob grundsätzlich alle SH-Gruppen tragenden Substanzen in der Lage sind zu schützen. Ist das der Fall, so spricht die Ineffektivität *in vivo* dafür, daß die Unwirksamkeit einzelner auf gewisse biologische Besonderheiten zurückzuführen ist, die mit der chemischen Struktur nur indirekt etwas zu tun haben. Wir haben früher diskutiert [18], daß offenbar für das Wirksamwerden einer Substanz *in vivo* eine ganze Reihe Voraussetzungen erfüllt sein müssen: Verträglichkeit, Verteilungsmuster hinsichtlich der Organe, aber auch der Zellbestandteile, Verhalten im Stoffwechsel und Ausscheidung.

Gleichzeitig soll eine Reihe anderer aromatischer Verbindungen geprüft werden, die teils *in vivo* einen Strahlenschutz herbeiführen und teils aber auch nicht. Von einigen dieser Substanzen müssen wir annehmen, daß sie *in vivo* ihren Schutzeffekt über pharmakodynamische oder toxische Reaktionen auslösen. Wir werden sehen, daß sie auch im radiochemischen Versuch schutzwirksam sind. Dabei treten sie entweder als H-Donatoren auf, oder ihr Wirkungsmechanismus kann bisher nicht mit Sicherheit festgelegt werden.

Experimenteller Teil

Material und Methode

Es wird als Eiweißmodell polykristallines Serumalbumin vom Rind (Behringwerke, Marburg) verwendet. Alle weiteren bestrahlungstechnischen und methodischen Einzelheiten haben wir früher beschrieben [17]. Die Dosisleistung der Röhre ist inzwischen gegenüber unserer ersten Mitteilung mit 61 000 R/min etwas abgefallen und beträgt in der vorliegenden Versuchsreihe 54 500 R/min.

Die von uns verwendeten Substanzen zur Prüfung eines Schutzeffektes werden der 1%igen Albuminlösung meist in Form der Hydrochloride 10 min vor der Bestrahlung zugegeben. Durch Verwendung eines Phosphatpuffers wird dabei das pH von 7,0 stets aufrechterhalten.

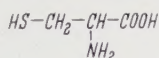
Die Bestrahlungsdosen betragen 1 bis 6×10^6 R. Wir haben früher darauf hingewiesen, daß nach 6×10^6 R in der von uns gewählten Versuchsanordnung mit Hilfe der Ultrazentrifuge kein normales Serumalbumin mehr nachweisbar ist. Es sah damals so aus, als ob nur niedermolekulare Bruchstücke gebildet würden. Bei den jetzt vorliegenden Beobachtungen kommen wir zu anderen Ergebnissen. Zunächst zeigt sich wieder, daß 6 Mill. R die Grenze sind, bei der alle normalen Albuminanteile aus der Lösung verschwinden. Dieser Abbau des Albumin ist in den Abbildungen 1 und 3 als Bestätigung unserer früheren Beobachtungen dargestellt. Im Gegensatz zu früher beobachten wir jetzt aber, daß sich nach Bestrahlung mit Dosen bis 6 Mill. R ein gallertartiger Niederschlag, d. h. ein hochmolekularer Anteil bildet. Interessanterweise ist aus Abbildung 1 zu erkennen, daß man Albuminlösungen auch im Eisschrank (+ 4°C) nicht längere Zeit aufbewahren sollte.

Es bildet sich dabei ein Bodensatz, durch den sich der Gehalt an nativem, in Lösung befindlichem Rinderalbumin vermindert. Wir haben untersucht, wie hoch der Anteil der hochmolekularen Komponente ist, und festgestellt, daß nach einer Bestrahlung mit 6 Mill. R $\sim 58\%$ des Albumin in diese Form übergeht. Der Rest wird offenbar in niedermolekulare Substanzen gespalten, die sich im Ultrazentrifugendiagramm nicht mehr darstellen lassen. Auch der hochmolekulare Anteil läßt sich nicht erfassen. Wir haben versucht, ihn im sogenannten Unterschichtungsversuch festzuhalten, jedoch sackt ein sich im Beginn des Versuches ausbildender Gradient in wenigen Minuten zusammen.

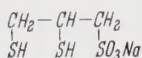
Wir haben in den weiteren Untersuchungen die aus der Bestrahlung von Albuminlösungen resultierenden Produkte nicht weiter berücksichtigt, vielmehr als Maß der

Strahlenwirkung nur den Gradienten des normalen, nativen Albumin beachtet und ausgemessen. Auch diesmal, wie in den früheren Versuchen, ändert sich die Sedimentationsgeschwindigkeit dieses Gradienten nicht. Entsprechend dem verbleibenden Albuminanteil wird er nur mit zunehmender Strahlendosis kleiner. Wir haben damit einen ausgezeichneten Indikator, um Schutzeffekte quantitativ zu erfassen. Das entspricht vollkommen unserer alten Versuchsanordnung, mit der wir den 100%igen Schutz der Serumalbuminlösung durch einen Zusatz von 0,25% Cystein bei 6 Mill. R haben beobachten können [17].

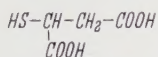
Als schwefelhaltige Substanzen verwenden wir:



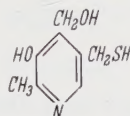
Cystein



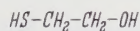
BAL-sulfons. Na



Thioäpfelsäure



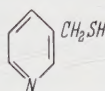
5-Mercaptopyridoxin



Thioglycol

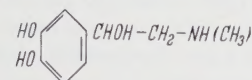


Thioharnstoff

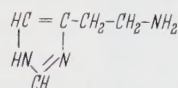


5-Mercaptomethylpyridin

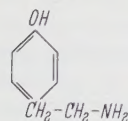
von den nicht schwefelhaltigen:



Adrenalin



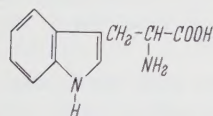
Histamin



Tyramin



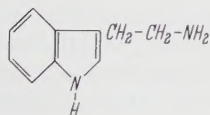
Nikotinsäureamid



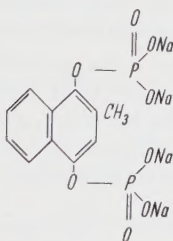
Tryptophan



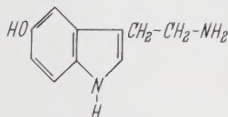
Natriumbenzoat



Tryptamin



Synkavit



Serotonin

Ergebnisse

a) Setzt man einer 10%igen Rinderserumalbuminlösung eine Reihe von Sulfhydrylkörpern, wie z. B. Cystein, Thioglycol, Thioäpfelsäure, Thioharnstoff, 5-Mercaptopyridoxin oder 5-Mercaptomethylpyridin, zu, so vermögen steigende Strahlendosen bis zu 6×10^6 R die Konzentration des normalen Albumin nicht

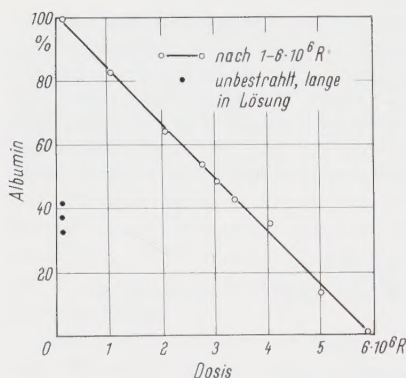


Abb. 1. Dosis-effekt-Kurve von Albumin. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Strahlendosis in R.

zu ändern. In Abbildung 2 sind diese Verhältnisse graphisch dargestellt. Von den ausgewählten Sulfhydrylkörpern, die hier in einer Konzentration von 2×10^{-2} mol in der Lösung vorliegen und dabei alle gleich wirksam sind, ist aus in-vivo-Experimenten bekannt, daß sie durchaus nicht alle schützen bzw. gleich wirksam sind. Der Schutzeffekt des Cystein ist seit den ersten Untersuchungen von *Patt* und Mitarb. [33] in aller Welt bestätigt worden. Thioglycol hatte in eigenen Tierexperimenten keine Schutzwirkung [22]. Dasselbe gilt für die Thioäpfelsäure [26]. Zur Schutzwirkung des Thioharnstoffes in vivo haben wir ausführlich Stellung genommen [22, 21, 24, 25] und dabei festgestellt, daß er einmal nicht zu den SH-Körpern zu zählen ist, da er sowohl in vivo als auch unter den vorliegenden Bedingungen in vitro keine freie Sulfhydrylgruppe besitzt, zum anderen seinen Schutzeffekt in vivo offensichtlich über seine toxische Wirkung entfaltet. Jedoch ist aus anderen radiationschemischen Untersuchungen bekannt, daß er in vitro über einen „Radikalfangmechanismus“ zu schützen vermag [5, 20, 29, 37]. Die Schutzwirkung des 5-Mercaptopyridoxin im Tierexperiment ist von uns mehrfach beschrieben [14, 15, 26]. Dabei wurde auch das 5-Mercaptomethylpyridin untersucht. Dieser Körper ist in vivo völlig unwirksam.

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen, daß in vitro auch Sulfhydrylkörper einen Strahlenschutz besitzen, bei denen in vivo ein solcher fehlt.

b) Während im vorhergehenden Abschnitt lediglich die qualitative Seite des Schutzeffektes beachtet wird, soll im folgenden den quantitativen Verhältnissen Rechnung getragen werden. *Alexander* [5] spricht in dem Zusammenhang von Schwellenkonzentrationen der Schutzstoffe, unterhalb derer ein Makromolekül entsprechende radikalbedingte Veränderungen erfährt, als ob der Schutzstoff

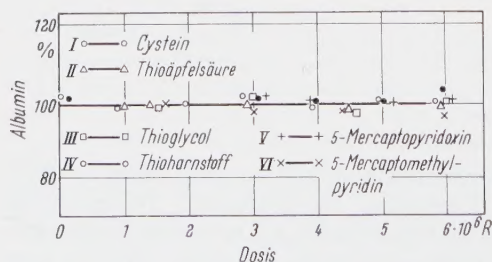


Abb. 2. Albumin + Schutzstoff. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Strahlendosis in R.

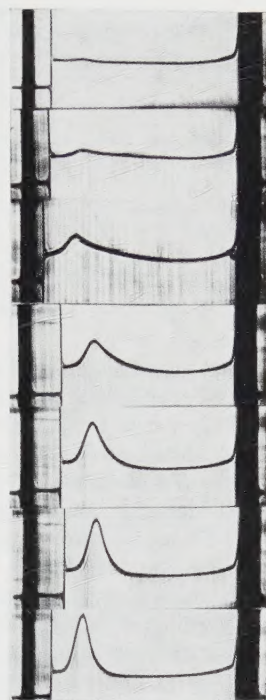
a) 6×10^6 R 99⁰/₀ Abbaub) 5×10^6 R 87⁰/₀ Abbauc) 4×10^6 R 64⁰/₀ Abbaud) 3×10^6 R 51⁰/₀ Abbaue) 2×10^6 R 36⁰/₀ Abbauf) 1×10^6 R 18⁰/₀ Abbaug) unbestrahlt 100⁰/₀

Abb. 3. Verhalten des Albumingradienten bei verschiedenen Strahlendosen.

gar nicht anwesend sei. Wir haben uns bemüht, die gerade optimale Schutzstoffkonzentration für eine Reihe von Sulfhydrylkörpern zu bestimmen, d. h. jene Konzentration, die gerade in der Lage ist, die 100⁰/₀ige Zerstörung des Albumin bei 6×10^6 R voll aufzuheben.

Die Abbildung 4 gibt die Analyse eines solchen Versuches für Cystein wieder. Man erkennt deutlich, wie der Schutzeffekt mit zunehmender Cysteinkonzen-

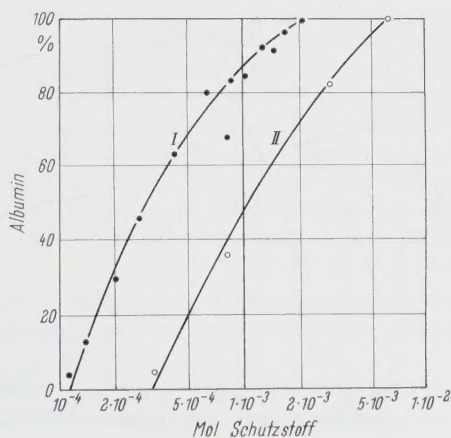


Abb. 4. Albumin, 1⁰/₀ in Phosphatpuffer pH 7,0. $6 \cdot 10^6$ R bestrahlt, Schutz durch I = Cystein; II = Thioäpfelsäure. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Mol Schutzstoffe im Ansatz, logarithmischer Maßstab.

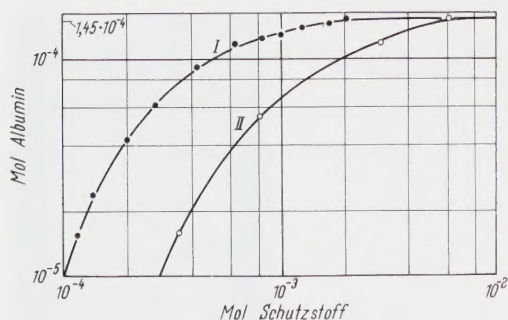


Abb. 5. Albumin $6 \cdot 10^6$ R bestrahlt. I = Cystein; II = Thioäpfelsäure. Ordinate: Mol unverändertes Albumin, logarithmischer Maßstab; Abszisse: Mol Schutzstoff im Ansatz, logarithmischer Maßstab.

tration zunimmt, bis bei einer solchen von $2,1 \times 10^{-3}$ mol auch bei 6 Mill. R keinerlei Veränderung des Albumingradienten mehr festzustellen ist. In Abbildung 4 sind die Verhältnisse für Cystein, aber auch für Thioäpfelsäure graphisch dargestellt. Dabei erscheinen in der Ordinate die Prozente unveränderten Albumins und in der Abszisse die molare Konzentration des Schutzstoffes im logarithmischen Maßstab. Man erkennt deutlich, daß das Optimum beim Cystein bei etwa 2×10^{-3} mol erreicht wird, bei der Thioäpfelsäure erst bei etwa 6×10^{-3} mol. Die Angabe von *Rosen, Brohult u. Alexander* [36], daß die Steigerung des Prozentgehaltes normalen Albumins mit steigender Konzentration des Schutzstoffes einer Exponentialfunktion folgt, können wir nicht bestätigen.

Um die quantitativen Beziehungen zwischen zu schützendem Albumin und Schutzstoff übersichtlicher darzustellen, haben wir in Abbildung 5 in doppelt-logarithmischem Raster Mol Schutzstoff (Cystein und Thioäpfelsäure) auf der Abszisse gegen Mol geschützten Albumins auf der Ordinate aufgetragen. Wie in Abbildung 4 und später auch in Abbildung 6 tritt der quantitative Unterschied zwischen Cystein und Thioäpfelsäure zutage.

In Abbildung 6 erscheinen die Befunde für die Auswertung am vorteilhaftesten. Im halblogarithmischen Maßstab ist hier das Verhältnis Mol Schutzstoff/Mol Albumin (Abszisse) gegen den Prozentsatz unveränderten Albumins (Ordinate) bei Bestrahlung mit 6×10^6 R aufgetragen. Man erkennt, daß ein voller Schutz beim Cystein bei einem Mol-Verhältnis Cystein/Albumin = 14/1

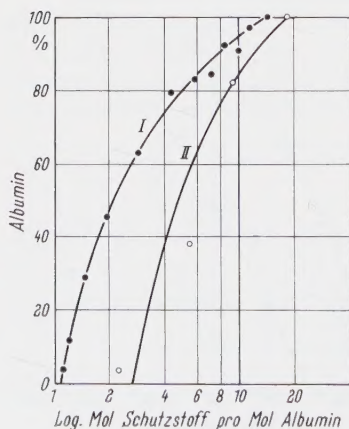


Abb. 6. Albumin, 1% in Phosphatpuffer pH 7,0. $6 \cdot 10^6$ R bestrahlt, Schutz durch I = Cystein; II = Thioäpfelsäure. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Mol Schutzstoff/Mol Albumin im Ansatz, logarithmischer Maßstab.

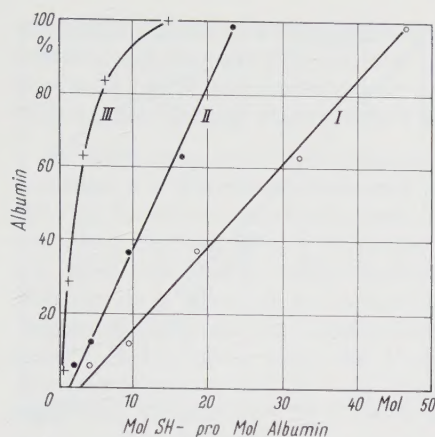


Abb. 7

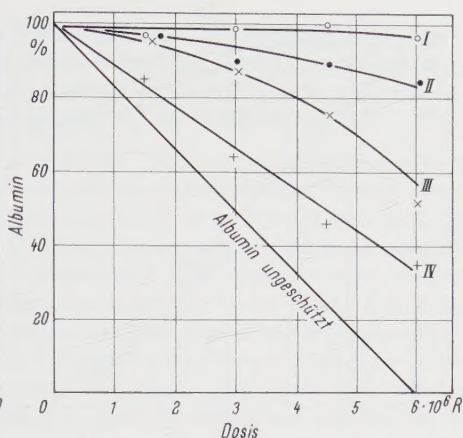


Abb. 8

Abb. 7. Albumin, $6 \cdot 10^6$ R bestrahlt und I u. II = Bal, III = Cystein. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Mol SH-/Mol Albumin im Ansatz I und II BAL (s. Text). — Abb. 8. Albumin + Schutzstoff. I = Adrenalin, II = Tyramin, III = Histamin, IV = Nikotinsäureamid. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Strahlendosis in R.

eintritt, bei der Thioäpfelsäure erst bei 16/1. Dieses Verhältnis der notwendigen molaren Konzentration eines Schutzstoffes zum Schutz von einem Mol Albumin ist für die weitere Diskussion des Schutzmechanismus von großem Interesse. Hierzu ein weiteres Beispiel.

Es stand uns das von *Arbusow* und *Korotkova* [6, 7] beschriebene und im Tierversuch voll schutzwirksame BAL-sulfonsaure Natrium zur Verfügung. Da hier zwei Sulfhydrylgruppen vorliegen, ist es von großem Interesse zu wissen, ob beide wirksam werden. Auf diese Frage haben wir vor längerer Zeit schon aufmerksam gemacht [23].

In Abbildung 7 sind die Verhältnisse unter Berücksichtigung der beiden SH-Gruppen und im Vergleich zum Cystein dargestellt. Wir haben keinen halblogarithmischen Maßstab gewählt, jedoch die übersichtlichste Darstellung wie in Abbildung 6. Auf der Abszisse erscheinen Mol SH-/Mol Albumin und auf der Ordinate der Prozentsatz unveränderten Albumins bei einer Dosis von 6×10^6 R. Legt man der Schutzwirkung alle in Lösung befindlichen Sulfhydrylgruppen zugrunde und billigt ihnen damit gleiche Wirksamkeit zu, so ergeben sich die Kurve I und ein Verhältnis Mol SH-/Mol Albumin bei 100%igem Schutz von 46/1. Dieses Verhältnis fällt größenordnungsmäßig stark heraus. Geht man von der Annahme aus, daß nur eine von den zwei SH-Gruppen wirksam wird, so reduziert sich das Mol-Verhältnis auf 23/1. Damit kommen wir den vorher gefundenen Bedingungen erheblich näher. Man kann daher annehmen, daß von den beiden Sulfhydrylgruppen des BAL-sulfonsauren Natrium tatsächlich nur eine strahlenschutzwirksam ist.

Die anderen Sulfhydrylkörper, wie Thioglycol, 5-Mercaptopyridoxin, 5-Mercaptomethylpyridin bzw. Thioharnstoff, werden quantitativ nicht weiter untersucht.

c) In einer weiteren Untersuchungsreihe wenden wir uns der Frage zu, wie sich nicht SH-Gruppen tragende Schutzsubstanzen unter den gewählten Ver-

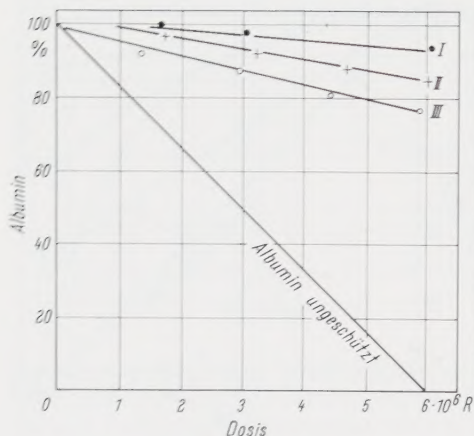


Abb. 9

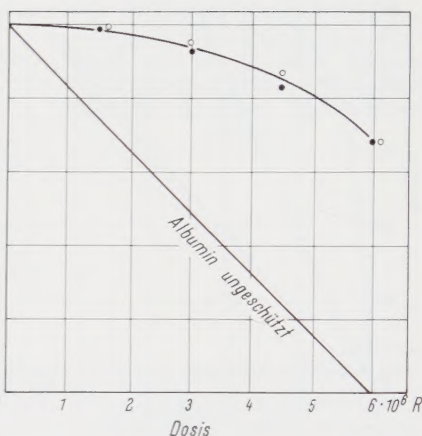


Abb. 10

Abb. 9. Albumin + Schutzstoff, Dosis-effekt-Kurven. I = Serotonin, II = Tryptophan, III = Tryptamin. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Strahlendosis in R. — Abb. 10. Dosis-effekt-Kurven von Albumin + ● —●—● Synkavit bzw. ○ —○—○ Natriumbenzoat. Ordinate: Prozent unverändertes Albumin; Abszisse: Strahlendosis in R.

suchsbedingungen in vitro verhalten. Die von uns untersuchten Substanzen sind in der Zusammenstellung unter Material und Methode aufgeführt. Abbildung 8 stellt die Verhältnisse für Adrenalin, Tyramin, Histamin und Nikotinsäureamid dar. Eine Bestimmung der Grenzkonzentration wie in b, die gerade einen 100/oigen Schutz des Albumin bei 6 Mill. R erzielt, erfolgt nicht. Vielmehr werden alle Stoffe in einem Molverhältnis Schutzstoff/Albumin wie 14/1 zugesetzt und der Prozentsatz des geschützten Albuminanteils bei Bestrahlung zwischen 1 und 6×10^6 R aufgetragen. Zunächst zeigt sich, daß alle Substanzen einen Schutzeffekt aufweisen, daß das Ausmaß desselben jedoch verschieden ist. Am wirksamsten ist Adrenalin und am wenigsten wirksam Nikotinsäureamid. Es muß darauf hingewiesen werden, daß sich in vivo der Schutzeffekt des Adrenalin und Histamin durch die pharmakodynamischen Eigenschaften der beiden Stoffe erklärt [30]. Das Nikotinsäureamid besitzt im Tierexperiment eine protektive Wirkung nur am Tumorgewebe, dagegen nicht am ganzen Tier [16]. Der Mechanismus ist hier in vivo genauso wie beim Adrenalin und Histamin ein ganz anderer als im radiationschemischen Experiment. Bei den vorliegenden Untersuchungen ist die gute Wirksamkeit des Adrenalin auf seine phenolische Struktur zurückzuführen. Man kann beim Adrenalin den Wasserstofftransfer quasi mit dem Auge verfolgen, weil hierbei über Adrenalinchinon Adrenochrom gebildet wird und sich die Lösungen rosarot, rot bzw. rotbraun verfärben. Für Tyramin beschreiben Alexander und Mitarb. [2] Schutzeffekte an Lösungen von Polymethylacrylsäure, die mit den eigenen Beobachtungen zu vergleichen sind.

Weiterhin untersuchen wir Serotonin, Tryptophan und Tryptamin. Ihre Schutzwirkung im Tierexperiment ist bekannt [8, 19, 27, 28]. Wie in den Versuchen mit Adrenalin u. a. werden alle Stoffe einheitlich in einer Konzentration von 2×10^{-3} mol zugesetzt. In Abbildung 9 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Danach beträgt die geschützte Menge Albumin beim Serotonin 93/o, beim Tryptophan 84/o und beim Tryptamin 76/o. Es bestehen also in vitro

keine sehr großen Unterschiede in der Schutzwirkung. Im Tierexperiment unterscheiden sich die drei dagegen sehr erheblich. Wie beim Adrenalin erfolgt beim Serotonin ein Wasserstofftransfer, ersichtlich an einer dosisabhängigen Braunfärbung der Lösung, was für eine Chinonisierung des Moleküls spricht.

In Anlehnung an Untersuchungen von *Rosen, Brohult* und *Alexander* [36] beziehen wir Natriumbenzoat und ferner das von *Mitchell* und *Simon-Reuss* [31] als Strahlensensibilisator beschriebene Synkavit in unsere Untersuchungen ein. Beim Benzoat nimmt *Alexander* [5] einen besonderen Schutzmechanismus an, ohne sich jedoch näher darüber auszulassen. Die drei Autoren stellen übrigens ihre Versuche an menschlichem Serumalbumin unter ganz ähnlichen Bedingungen an wie wir. Unsere Ergebnisse sind in Abbildung 10 zusammengefaßt. Beide Stoffe sind der 10%igen Rinderserumalbuminlösung in einer Konzentration von 2×10^{-3} mol zugesetzt, was einem Verhältnis Mol Schutzstoff/Mol Albumin von 14/1 entspricht. Bei einer Strahlendosis von 6 Mill. R finden sich in beiden Fällen noch 67 bis 68% unverändertes Albumin wieder.

Diskussion

Ausgangspunkt unserer Untersuchungen ist, ob im radiationschemischen Experiment allen SH-Gruppen tragenden Verbindungen eine Strahlenschutzwirkung zukommt und inwieweit dieselbe auch quantitativ übereinstimmt. Wenn nämlich in vitro allen Sulfhydrylkörpern ein Schutzeffekt eigen ist, so kann das jeweilige Fehlen in vivo nur Gründe haben, die im biologischen Milieu zu suchen sind: Resorption und Ausscheidung, Metabolismus, Mikro- und Makroverteilungsmuster und Toxizität. Da bei den SH-Substanzen in vitro in erster Linie die Schutzwirkung dadurch zu erklären ist, daß sie als Wasserstoffdonatoren auftreten, wird noch eine Reihe anderer Stoffe in die Untersuchungen mit einbezogen. Ein Teil von ihnen ist auch in vivo wirksam, ein anderer dagegen nur schwach oder gar nicht. In einigen Fällen kann der Schutzeffekt im Tierexperiment mit großer Wahrscheinlichkeit auf pharmakodynamische Reaktionen zurückgeführt werden. Physiko-chemische Mechanismen sind also in vivo mehrfach ausgeschlossen. Grundsätzlich möchten wir an dieser Stelle festhalten, daß der Wasserstofftransfer zum Schutze biologischer Makromoleküle in vivo wahrscheinlich sehr selten ist, daß er vielmehr ersetzt wird durch einen Elektronentransfer oder Chargetransfer, die beide ebenfalls die Löschung einer Radikalstelle an der biologischen Struktureinheit herbeiführen und damit den Strahlenschaden beheben.

Wenn wir unsere Ergebnisse wie in Tabelle 1 zusammenstellen, so zeigen sich einige interessante Zusammenhänge. Zunächst soll davon ausgegangen werden, daß ein Molekül Rinderserumalbumin 17 SS- und 0,67 SH-Gruppen besitzt [4, 38]. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, daß Radikale in einem Protein die Tendenz haben, sich an den SH- oder SS-Schwefel zu lokalisieren [11, 12, 13, 34, 35, 32]. Dabei ist der Mechanismus der Radikalwanderung noch völlig ungeklärt. Es soll auch nicht übersehen werden, daß sich zahlreiche Widersprüche beim Vergleich der einzelnen Untersuchungen ergeben. Aus den in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnissen ergibt sich, daß zwischen 15 und 23 Mol Schutzstoff notwendig sind, um 1 Mol Albumin optimal zu schützen. Damit kommen wir rein zahlenmäßig in den Bereich der SS-Gruppen des Albumin. Geht man davon aus, daß tatsächlich die Radikalstelle an den SS-

Tabelle 1.

Schutzsubstanz	Mol Schutzsubstanz/ Mol Albumin	Prozent geschütztes, d. h. unverändertes Albumin bei 6×10^6 R
a) Substanzen mit SH-Gruppe		
Cystein	14/1	97 %
Thioäpfelsäure	16/1	98 %
BAL-sulfons. Natrium	23/1	98 %
b) schwefelfreie Substanzen		
Adrenalin	14/1	96 %
Tyramin	14/1	84 %
Tryptophan	14/1	76 %
Serotonin	14/1	93 %
Tryptamin	14/1	84 %
Histamin	14/1	52 %
Nikotinsäureamid	14/1	35 %
Synkavit	14/1	68 %
Natriumbenzoat	15/1	67 %

Schwefel lokalisiert wird, so würde das auf Grund der Zahlenverhältnisse bedeuten, daß je SS-Gruppe ein Schutzstoffmolekül vorhanden sein muß.

Nimmt man die von *Eldjarn* und *Pihl* [9, 10] zugrunde gelegte Bildung von gemischten Disulfiden an, so ist im Falle der Sulphydrylkörper die Löschung der Radikalstelle am Proteinschwefel gut vorstellbar. Dagegen stoßen wir auf Schwierigkeiten, wenn wir nach einer Erklärung für die Wirksamkeit nicht SH-haltiger aromatischer Verbindungen suchen. Auf die Schwierigkeit der Deutung von Schutzeffekten dieser Art hat schon *Alexander* [5] in ein wenig anderem Zusammenhang aufmerksam gemacht. Sie wird in unserem Beispiel unterstrichen durch das übereinstimmende Molverhältnis schwefel- und nichtschwefelhaltiger Substanzen. Sollte sich eines Tages erweisen, daß durchaus nicht eine endgültige Lokalisation der Radikalstelle am Schwefel erfolgt, so würde die gefundene Übereinstimmung der Zahlenverhältnisse rein zufällig sein oder ganz andere Deutungsmöglichkeiten zulassen. Es ließen sich die beobachteten Schutzeffekte auf einen Wasserstofftransfer zurückführen, der sowohl von Sulphydryl- als auch von Nicht-Sulphydrylkörpern erfolgen kann. Unseres Erachtens liegen bereits hinreichend viele Beobachtungen vor, daß eine Wanderung der Radikalstelle zum Schwefel bei großen Makromolekülen durchaus nicht immer eintreten muß. Wir werden darüber an anderer Stelle ausführlich berichten.

Zusammenfassung

Es werden Strahlenschutzuntersuchungen *in vitro* an 1%igen Rinderserumalbuminlösungen im Dosisbereich zwischen 1 und 6 Mill. R durchgeführt. Der Schutzeffekt wird am Prozentsatz von unverändertem Albumin im Ultrazentrifugendiagramm festgehalten. An schwefelhaltigen Substanzen werden untersucht: Cystein, Thioglycol, Thioharnstoff,

Thioäpfelsäure, BAL-sulfonsaures Na, 5-Mercaptopyridoxin und 5-Mercaptomethylpyridin und an aromatischen Substanzen: Adrenalin, Tyramin, Histamin, Nikotinsäureamid, Na-benzoat, Synkavit, Serotonin, Tryptamin und Tryptophan. Alle Stoffe zeigen einen Strahlenschutzeffekt, wobei auffallend ist, daß unabhängig von der chemischen Konstitution zwischen 15 bis 23 Mol notwendig sind, um 1 Mol Albumin zu schützen. Die Frage des Wasserstofftransfers als Schutzmechanismus und die Rolle der SS- und SH-Gruppen am Albuminmolekül werden diskutiert.

Summary

In vitro investigations concerning radiation protection were done with 1% solutions of bovine serum albumin using a dose between 1 and 6 million R. Using the ultracentrifugal pattern the percentage of unchanged albumin shows the protective effect. The following sulphur containing substances were investigated: cysteine, thioglycol, thiourea, thiomalonic acid, BAL-sodiumsulfonate, 5-mercaptopyridoxine, and 5-mercaptomethylpyridine. The following aromatic substances were investigated: adrenaline, tyramine, histamine, nicotinamide, Na-benzoate, synkavit, serotonin, tryptamine, and tryptophan. All substances show a radiation protective effect. It is obvious, that 15 to 23 mol are necessary to protect 1 mol of albumin, independent of the chemical structure. The problems of the hydrogen transfer as a protection mechanism and the importance of the SS- and SH-groups in the albumin molecule are discussed.

Résumé

La radioprotection est étudiée in vitro sur des solutions de 1% d'albumine sérique de bovidés, pour des doses de 1 à 6 Mill. R. L'effet radioprotecteur est exprimé en pourcent d'albumine non-modifiée dans le diagramme à l'ultracentrifuge. Les substances sulfurées suivantes sont étudiées: la cystéine, le thioglycol, la thiourée, l'acide thiomalique, le BAL-Na-acide sulfonique, la 5-mercaptopyridoxine et la 5-mercaptométhylpyridine; comme substances aromatiques: l'adrénaline, la thyramine, l'histamine, l'amide de l'acide nicotinique, le benzoate de Na, le Synkavit, la Sérotonine, la tryptamine, le tryptophane. Toutes ses substances présentent un effet protecteur; on remarque que, indépendamment de la constitution chimique, 15—23 Mol sont nécessaires pour la protection d'un Mol albumine. Discussion de la question du transfert d'hydrogène en tant que mécanisme protecteur et du rôle des groupes SS et SH sur la molécule d'albumine.

Schrifttum

1. Alexander, P., u. M. Fox: J. Chim. Phys. 50 (1953): 415. — 2. Alexander, P., Z. M. Bacq, S. F. Cousens, M. Fox, A. Herve u. J. Lazar: Radiat. Res. 2 (1955): 392. — 3. Alexander, P., u. D. J. Toms: Radiat. Res. 9 (1958): 509. — 4. Alexander, P., u. L. D. G. Hamilton: Radiat. Res. 13 (1960): 214. — 5. Alexander, P.: Radiation Protection and Recovery, p. 3/44. Oxford 1960. — 6. Arbusow, S. J., u. W. P. Korotkova: Ann. Rep. Inst. exp. Med. AMN 3 (1958): 445. — 7. Arbusow, S. J.: Arch. exp. Path. Pharmak. 236 (1959): 265. — 8. Bacq, Z. M., u. A. Herve: Bull. Acad. roy. Méd. Belg. Ser. VI 17 (1952): 13. — 9. Eldjarn, L., u. A. Pihl: Progress in Radiobiology, p. 249. Edinburgh 1956. — 10. Dies.: 25th Anniversary Publ. from the Norwegian Radium Hospital M.-N. Kl. No. 3 (1958): 253. — 11. Gordy, W., u. H. Shields: Radiat. Res. 9 (1958): 611. — 12. Henriksen, Th., u. A. Pihl: Int. J. Radiat. Biol. 3 (1961): 351. — 13. Henriksen, Th.: J. Chem. Phys. 36 (1962): 1258. — 14. Koch, R.: Acta chem. scand. 12 (1958): 1873. — 15. Koch, R., u. U. Schmidt: Strahlentherapie 113 (1960): 89. — 16. Koch, R., u. I. Seiter: Naturwissenschaften 48 (1961): 626. — 17. Koch, R., u. D. Klemm: Strahlentherapie 115 (1961): 586. — 18. Koch, R.: Strahlentherapie Sdbd. 51 (1962): 224. — 19. Kriegel, H., u. H. J. Melching: Naturwissenschaften 46 (1959): 652. — 20. Kusin, A. M.: Sowjetwiss., Naturwiss. Beitr. H. 5 (1957): 436. — 21. Langendorff, H., R. Koch u. H. Sauer: Strahlentherapie 93 (1954): 281. — 22. Langendorff, H.,

R. Koch u. U. Hagen: Strahlentherapie 95 (1954): 238. — 23. *Langendorff, H.*, u. *R. Koch*: Strahlentherapie 95 (1954): 535. — 24. *Langendorff, H.*, *R. Koch* u. *U. Hagen*: Arch. int. pharmacodyn. 100 (1954): 1. — 25. *Dies.*: ebda 104 (1955): 57. — 26. *Langendorff, H.*, *M. Langendorff* u. *R. Koch*: Strahlentherapie 107 (1958): 121. — 27. *Langendorff, H.*, *H. J. Melching* u. *H. A. Ladner*: Strahlentherapie 108 (1959): 251. — 28. *Dies.*: ebda 109 (1959): 554. — 29. *Limperos, G.*, u. *W. A. Mosher*: Amer. J. Roentgenol. 63 (1950): 691. — 30. *van der Meer, C.*, u. *D. W. van Bekkum*: Int. J. Radiat. Biol. 1 (1959): 5. — 31. *Mitchell, J. S.*, u. *I. Simon-Reuss*: Brit. J. Cancer 6 (1952): 305 u. 317. — 32. *Ormerod, M. G.*, u. *P. Alexander*: Nature 193 (1962): 290. — 33. *Patt, H. M.*, *E. B. Tyree*, *R. L. Straube* u. *D. E. Smith*: Science 110 (1949): 213. — 34. *Rajewsky, B.*, *A. Redhardt* u. *G. Froese*: Z. Naturforsch. 14 b (1959): 823. — 35. *Rajewsky, B.*, u. *A. Redhardt*: Nature 193 (1962): 365. — 36. *Rosen, D.*, *S. Brohult* u. *P. Alexander*: Arch. Biochem. 70 (1957): 266. — 37. *Sheraga, H. A.*, u. *L. F. Nims*: Arch. Biochem. Biophys. 36 (1952): 336. — 38. *Stauff, J.*, u. *R. Jaenincke*: Kolloid. Z. 175 (1961): 1.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Synkavit und Nikotinsäureamid wurden in dankenswerter Weise von der Firma Deutsche Hoffmann-La Roche AG, Grenzach (Baden), 5-Mercaptopyridoxin und 5-Mercaptomethylpyridin von der Firma E. Merck AG, Darmstadt, sowie BAL-sulfons. Na von Herrn Prof. Dr. S. J. Arbusow, Leningrad, zur Verfügung gestellt.

Lebenslauf

Am 6. April 1937 wurde ich als Sohn des Frauenarztes Prof. Dr. med. Fritz Stähler und seiner Ehefrau Harriet Stähler, geb. Kock, in Siegen in Westfalen geboren. Die Kindheit verbrachte ich im Kreise von vier Geschwistern in Frankfurt/Main, wo ich auch 1944 eingeschult wurde. Durch die Kriegssereignisse kamen wir 1945 nach Siegen zu den Großeltern. Dort besuchte ich zunächst die Volksschule und von 1948 an den humanistischen Zweig des Städtischen Gymnasiums, an dem ich 1957 das Abitur ablegte. Im Sommer 1957 begann ich in Freiburg/Br. das Medizinstudium. Nach fünf vorklinischen Semestern in Freiburg und Kiel legte ich im Sommer 1959 in Freiburg das Physikum ab, nach sechs klinischen Semestern an den Universitäten Freiburg und Innsbruck machte ich im Sommer 1962 in Freiburg das medizinische Staatsexamen. -- Die Versuche für die vorliegende Dissertation wurden 1961 am Radiologischen Institut der Universität Freiburg unter seinem Direktor Prof. Dr. H. Langendorff durchgeführt.

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät
der Universität Freiburg im Breisgau

Dekan: Prof. Dr. Albrecht Fleckenstein

Referent: Prof. Dr. Ruprecht Koch

